Gélose de CHAPMAN au mannitol

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de Chapman au mannitol permet l'isolement sélectif, la recherche et le dénombrement des staphylocoques pathogènes dans le lait, les produits carnés, les produits de la mer, les autres produits alimentaires, les produits pharmaceutiques, les produits cosmétiques et les prélèvements biologiques d'origine animale. Elle est également employée au cours de l'examen bactériologique des eaux filtrables telles que les eaux de piscine, de consommation humaine ou encore d'établissements de soins.

HISTORIQUE

Les expériences de Koch ont montré que les staphylocoques supportent les milieux hypersalés à 7,5%. Chapman a confirmé ces premiers résultats en observant que les staphylocoques coagulant le plasma de lapin présentaient des colonies jaunes sur le milieu auquel il a donné son nom, alors que la plupart des autres bactéries étaient inhibées.

PRINCIPES

- La forte concentration en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que les staphylocoques.
- La fermentation du mannitol, mise en évidence par le virage au jaune de l'indicateur pH (rouge de phénol), permet d'orienter le diagnostic.
- La mise en évidence des staphylocoques pathogènes devra être confirmée par la recherche de la coagulase et, éventuellement, de la désoxyribonucléase et de la phosphatase.

PREPARATION

- Mettre en suspension 111,0 g de milieu déshydraté (BK030) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

NOTA :

Une liquéfaction partielle de l'agar entraînera inévitablement une altération significative de la consistance du gel du milieu solidifié, après stérilisation et refroidissement.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

MODE D'EMPLOI

Cas général :

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance).
- Refroidir et maintenir à 44-47°C.
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Transférer 0,1 mL du produit à analyser et de ses dilutions décimales dans les boîtes de Petri.
- Etaler l'inoculum à la surface du milieu à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à 37°C pendant 24 et 48 heures.

Contrôle des eaux :

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance).
- Refroidir et maintenir à 44-47°C.
- Couler en boîtes de Petri stériles (l'épaisseur de gélose doit être égale à 5 mm).
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Filtrer stérilement sur membrane un volume déterminé de l'échantillon à tester.
- A la surface des boîtes ainsi préparées ou du milieu pré-coulé (BM148) ramené préalablement à température ambiante, déposer la membrane en veillant à ce que le contact soit parfait.
- Incuber à (36 ± 2)°C pendant (44 ± 4) heures.

LECTURE

Les staphylocoques pathogènes forment des colonies luxuriantes, pigmentées, entourées d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol. Les staphylocoques non pathogènes forment en général de petites colonies rouges qui ne modifient pas la teinte du milieu. Quelques souches de *Staphylococcus epidermidis* sont capables de fermenter le mannitol. Après 24-48 heures d'incubation, quelques souches d'entérocoques, de *Bacillus*, de *Micrococcus* et de *Serratia* peuvent cultiver.

FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone ..... 5,0 g
- Peptone pepsique de viande ..... 5,0 g
- Extrait de viande ..... 1,0 g
- Mannitol ..... 10,0 g
- Chlorure de sodium ..... 75,0 g
- Rouge de phénol ..... 25,0 mg
- Agar agar bactériologique ..... 15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre rosée, fluide et homogène.
- Milieu préparé : gélose rouge.

- Réponse culturale de croissance après 24-48 heures d'incubation à 37°C (**XP CEN ISO/TS 11133-2**) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques
Staphylococcus aureus	DSM 799	$P_R \geq 50\%$	colonies jaunes, entourées d'une auréole jaune
Staphylococcus aureus	ATCC® 25923	$P_R \geq 50\%$	colonies jaunes, entourées d'une auréole jaune
Staphylococcus epidermidis	ATCC 12228	bonne, score 2	colonies roses, entourées d'une zone rouge
Escherichia coli	ATCC 25922	inhibée, score 0	

- Réponse culturale de croissance après 44 heures d'incubation à 36°C (**NF T 90-461**) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité)	Caractéristiques
Staphylococcus aureus	CIP 53.154	$66\% \leq R_3 \leq 150\%$	colonies jaunes, entourées d'une auréole jaune
Enterococcus faecalis	CCM 2541	inhibée	

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé en flacons : 6 mois à 2-8°C (à titre indicatif).
- Milieu préparé en boîtes : 1 mois à 2-8°C (à titre indicatif).

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri :
- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

PRESENTATION

Code

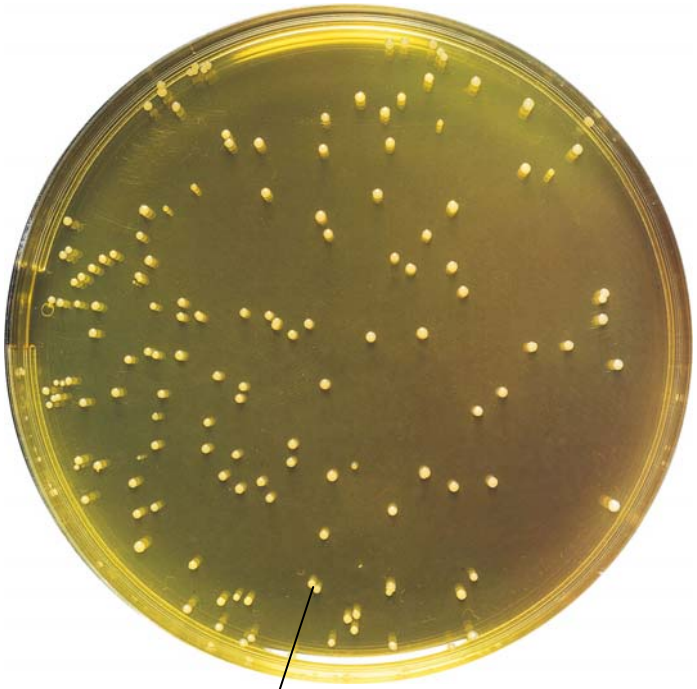
Milieu complet pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 55 mm) :
- Coffret de 20 boîtes — BM14808

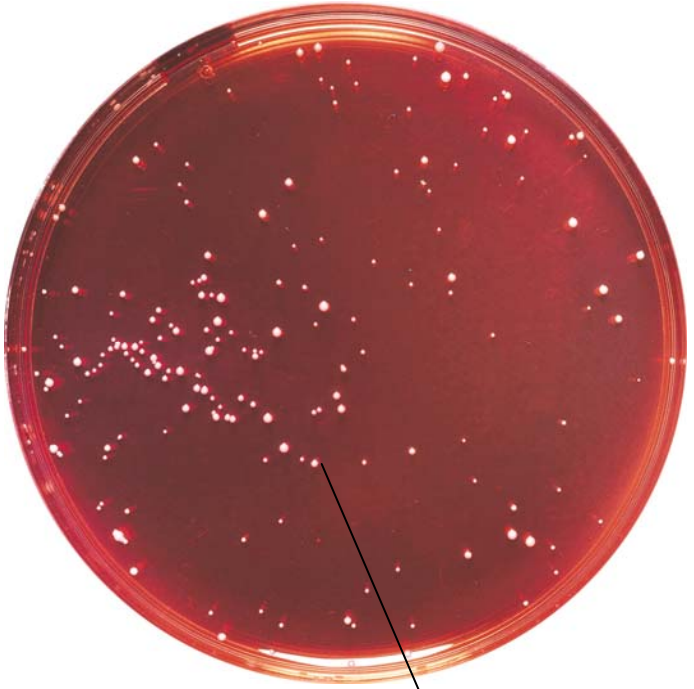
Milieu déshydraté :
- Flacon de 500 g — BK030HA

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

SUPPORT PHOTO : Référence **:** BK030HA, BM14808

Domaine d'utilisation : **I**solement sélectif, la recherche et le dénombrement des staphylocoques pathogènes.





Staphylococcus aureus

Aspect caractéristique

Colonies jaunes sur fond jaune ou entourées d'un halo jaune

Staphylococcus epidermidis

Aspect non caractéristique

Colonies blanches sur fond rouge

Gélose de Chapman au mannitol

Réf : BK030HA

Incubation 24 heures à 37°C (surface)
Colonies caractéristiques jaunes sur fond jaune ou entourées d'un halo jaune
(fermentation du mannitol)

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chapman, G.H. 1945. The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. J. Bacteriol., 50: 201.

Chapman, G.H. 1948. An improved Stone medium for the isolation and testing of food poisonning *staphylococci*. Food Research, 13: 100-105.

Journal Officiel du 21 septembre 1968. Méthodes officielles de prélèvement et d'analyse bactériologiques des glaces et crèmes glacées. (arrêté du 30 août 1968).

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

United States Pharmacopeia 29. 2006. Microbial Limit Tests, 2503-2508.

ISO 22718. Février 2006. Cosmétiques. Microbiologie. Détection de *Staphylococcus aureus*.

XP T 90-412. Juin 2006. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des staphylocoques pathogènes. Méthode par filtration sur membrane.

NF T 90-421. Août 2006. Essais des eaux. Examens bactériologiques des eaux de piscines.

NF T 90-461 (juillet 2001), NF T 90-461/A1 (juin 2005) et NF T 90-461/A2 (mai 2007). Qualité de l'eau. Contrôle qualité des milieux de culture.

NF EN ISO 22718 (T 75-605). Septembre 2009. Cosmétiques. Microbiologie. Détection de *Staphylococcus aureus*.

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2010-01-12.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : BK030/F/2001-04 :8.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr